

PCT

WELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHUNG NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : G01N 1/31 // B01J 19/00	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/60373 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 25. November 1999 (25.11.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/03476		(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), europäisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TO).
(22) Internationales Anmeldedatum: 20. Mai 1999 (20.05.99)		
(30) Prioritätsdaten: 198 23 660.3 20. Mai 1998 (20.05.98) DE		
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): NANOMONT GESELLSCHAFT FÜR NANOTECHNOLOGIE MBH [—/DE]; Im Biotechnologiepark, Technologie- und Gründerzentrum, D-14943 Luckenwalde (DE).		
(72) Erfinder; und		Veröffentlicht
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): JENTSCH, Winfried [DE/DE]; Weißenseer Weg 8, D-10367 Berlin (DE). SCHMÜCKER, Ulrich [DE/DE]; Gartenweg 20, D-39167 Ixteleben (DE). ZUBTSOV, Mikhail [DE/DE]; Louis-Pasteur-Strasse 11, D-14943 Luckenwalde (DE).		Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen den Ansprüche zugelassenen Frist: Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.
(74) Anwälte: GULDE, Klaus, W, usw.; Lützowplatz 11-13, D-10785 Berlin (DE).		
(54) Titel: METHOD AND DEVICE FOR FIXING MICRO- AND/OR NANO OBJECTS		
(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR FIXIERUNG VON MIKRO- UND/ODER NANOOBJEKTE		
(57) Abstract		
<p>The invention relates to a method suitable for mass production and a device for fixing micro- and/or nano-objects. The invention is characterized in that several liquid phases containing solid micro- and/or nano-objects (2) are filled into the wide filling holes (8) of conically narrowing tubes (4) and transported in the direction of a narrow outlet opening (7) of said tubes (4), the shape and size of the narrow outlet openings (7) prevent the passage of more than one object (2); the narrow outlet openings (7) of the tubes (4) are positioned three-dimensionally (in directions x, y and z) in relation to a support plane (11) before the objects (2) emerge; and the micro- and/or nano-objects (2) having passed through the outlet opening (7) are physically and/or chemically and/or mechanically fixed on the support (1) in the defined position.</p>		

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein für die Massenfertigung geeignetes Verfahren und eine Vorrichtung zur Fixierung von Mikro- und/oder Nanoobjekten. Die Erfindung ist dadurch gekennzeichnet, daß mehrere, feste Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) enthaltende flüssige Phasen in je eine weite Einfüllöffnung (8) sich konusartig verengender Röhre (4) eingefüllt und in Richtung je einer engen Austrittsöffnung (7) der Röhre (4) befördert werden, wobei die engen Austrittsöffnungen (7) durch ihre Form und Größe eine Durchlässigkeit von mehr als einem Objekt (2) verhindern, daß die engen Austrittsöffnungen (7) der Röhre (4) vor dem Austrreten der Objekte (2) relativ zu einer Trägerebene (11) dreidimensional (in x-, y- und z-Richtung) positioniert werden und daß die Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) nach dem Austrreten aus der Austrittsöffnung (7) in der vorgegebenen Position physikalisch und/oder chemisch und/oder mechanisch auf den Träger (1) fixiert werden.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäß dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LJ	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		

Verfahren und Vorrichtung zur Fixierung von Mikro- und/oder Nanoobjekten

Beschreibung

Die Erfahrung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Fixierung von Mikro- und/oder Nanoobjekten mit den Merkmalen der im Oberbegriff der Patentansprüche 1 und 15 genannten Gattung.

Für die Durchführung komplexer biochemischer Analysen, wie z.B. DNA-, Virus- oder Genanalysen ist die Untersuchung und Auswertung einer großen Anzahl von Einzelreaktionen erforderlich. Stand der Technik ist die parallele Durchführung von einigen 10...100 Analysen in sog. Mikrotiterplatten. Dabei wird die zu untersuchende Substanz in Platten mit regelmäßig angeordneten Vertiefungen mit verschiedensten Analysesubstanzen zur Reaktion gebracht. Das Einbringen der Probe- und Analysesubstanzen kann vollautomatisch mit sog. Pipettierrobotern erfolgen, wobei Stoffmengen von einigen 10...100 Mikrolitern verwendet werden. Dieses Verfahren und die anschließenden umfangreichen Bearbeitungsschritte zur Auslösung und Auswertung der gewünschten chemischen Reaktionen erfordern einen sehr hohen apparativen und zeitlichen Aufwand, so daß derartige Untersuchungen nur in speziellen Labors durchgeführt werden.

5 Nach einem Verfahren gemäß dem US-Patent 5.445.934 erfolgt eine Miniaturisierung und Parallelisierung der Untersuchungen dadurch, daß auf einem Trägerchip durch Verwendung der vier Nukleotid-Grundbausteine und der aus der Halbleitertechnik bekannten
10 Maskentechnologien beliebige Nukleotidketten (Oligonukleotide) synthetisiert werden. Auf diese Weise können auf einem Chip einige Millionen verschiedene Oligonukleotide erzeugt und nach Reaktion mit der Probesubstanz mittels bekannter Verfahren (z.B. Fluoreszenzanalyse) ausgewertet werden. Dem Vorteil der hohen Parallelität steht eine sehr geringe
15 Flexibilität gegenüber, da für jede neu zu detektierende Substanz (z.B. Gen oder Genabschnitt) ein neuer Maskensatz mit entsprechend hohen Kosten gefertigt
20 werden muß.

Ein weiteres, bekanntes Verfahren der biochemischen Analytik verwendet Kugeln aus Glas, Metall oder Kunststoff mit einem Durchmesser von einigen
25 Mikrometern bis einigen hundert Mikrometern als Träger für Analysesubstanzen. Damit lassen sich z.B. Oligonukleotide direkt oder durch sog. Linker an die Kugeln anlagern. Dieses Verfahren wird insbesondere für in-vivo-Analysen eingesetzt, indem diese Kugeln
30 in einer wässrigen Lösung direkt in Zellen, Gefäße etc. eingespritzt werden.

In der EP 0 040 943 B1 werden in einem Träger Löcher eingebracht, in die käfigartige Aufnahmeverrichtungen aus Draht o.ä. eingehängt werden. Mehrere Kugeln werden dann in einer nicht näher beschriebenen Weise in diese Käfige positioniert und fixiert.
35

5 Die Herstellung derartiger Strukturen dürfte extrem aufwendig sein. Eine Realisierung ist nicht bekannt. Der Miniaturisierbarkeit sind hier Grenzen gesetzt. Außerdem würde so ein Gebilde mechanisch sehr instabil sein und damit für einen praktischen Einsatz 10 kaum zu gebrauchen sein. Die Positionierung und Fixierung der Kugeln ist nicht gelöst.

15 Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein einfaches, preiswertes und für eine Massenfertigung geeignetes Verfahren einschließlich einer dazu gehörigen Vorrichtung zu schaffen, die eine exakte und reproduzierbare Positionierung und Fixierung einer großen Anzahl von biochemisch aktivierten als Formkörper ausgebildete Mikro- und/oder Nanoobjekte, 20 wie Mikrokugeln sowie Makromoleküle auf einem gemeinsamen Träger erlauben.

25 Die erfindungsmäßige Lösung zeichnet sich dadurch aus, daß die Anzahl der Formkörper und damit der zu untersuchenden Substanzen sehr einfach den Erfordernissen der durchzuführenden Analyse angepaßt werden kann. Das bedeutet, daß vorteilhafterweise von einigen wenigen bis einigen zehntausend Substanzen bestimmbar sind. Weiterhin läßt sich die Anordnung 30 der Formkörperbeschichtungen hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung als auch die Plazierung auf einem Träger sehr einfach den Erfordernissen anpassen. Insbesondere können auch Formkörper mit gleicher Beschichtung mehrfach auf einem Träger vorhanden sein. Durch diese Redundanz läßt sich eine Erhöhung der Auswertesicherheit erreichen. Damit wird 35 das Analyseverfahren äußerst flexibel und sehr gut miniaturisierbar (z.B. einige zehntausend Kugeln auf einem Quadratzentimeter). Weiterhin besteht die Be-

5 schichtung einer Kugel aus Bruchteilen eines
Pikoliters der Analysesubstanz. Damit wird der
Verbrauch an teilweise sehr teuren Analysesubstanzen
gegenüber dem Mikrotiterverfahren um mehrere
Größenordnungen gesenkt.

10 Als Formkörper können erfindungsgemäß an sich
bekannte kugelförmige Objekte sowie Makromoleküle
eingesetzt werden, die mit einer bestimmten Analyse-
substanz beschichtet sind und die in einer wäßrigen,
15 gepufferten Lösung dispergiert sind. Sie werden in
ein Kapillarrohr - vorzugsweise aus Glas - gegeben,
das am oberen Ende eine Einfüllöffnung mit einem
Innendurchmesser besitzt, der ein Befüllen mit her-
kömmlichen Pipetten oder Pipettierrobotern ermög-
licht. Das Kapillarrohr verjüngt sich nach unten zu
20 einer Austrittsöffnung, so daß sie im letzten
Abschnitt auf eine bestimmte Länge einen Innen-
durchmesser besitzt, der größer als der Kugeldurch-
messer, aber kleiner als der zweifache Kugeldurch-
messer ist. Bei genügend kleinem Kapillardurchmesser
25 verhindern die Kapillar- und Adhäsionskräfte ein
Austreten der Flüssigkeit und damit der Kugeln aus
der Austrittsöffnung. Durch Einwirkung einer Kraft
auf die flüssige Phase im Kapillarrohr - z.B. durch
30 Anlegen einer Druckdifferenz zwischen oberer
Kapillareinfüllöffnung und unterer Kapillaraustritts-
öffnung (entweder Überdruck oben oder Unterdruck
unten), durch elektrostatische, magnetische oder
andere physikalische Kraftwirkungen - erfolgt ein
35 Austreten der flüssigen Phase, die die Formkörper
dispergiert enthält, am unteren Ende des
Kapillarrohres.

5 Erfindungsgemäß werden mehrere solcher Kapillarrohre, gefüllt mit Formkörpern unterschiedlicher Beschichtung und Beschaffenheit, regelmäßig zu einem Positionierkopf angeordnet, vorzugsweise hexagonal oder in einem rechtwinkligen Raster, so daß mindestens die Austrittsöffnungen und auch die Einfüllöffnungen sich in einer Ebene senkrecht zur Kapillarachse befinden. Diese Ebene wird im weiteren als Austrittsebene bezeichnet.

10 Ordnet man nunmehr einen Träger parallel unterhalb der Austrittsebene in einem Abstand an, der kleiner als der Formkörperdurchmesser ist und stellt die erwähnte Druckdifferenz her, so wird aus allen Kapillaren sowohl die flüssige Phase austreten als auch aus jeder Kapillare genau eine Kugel, wenn der Formkörper eine Kugel ist, auf dem Träger aufsetzen. Der Träger kann hierbei eben oder strukturiert sein.

15 Bevor Positionierkopf und Träger nach Beendigung des Positionierungsvorganges wieder voneinander entfernt werden, müssen die ausgetretenen Kugeln am Träger fixiert werden, da andernfalls beim Abreißen des Flüssigkeitsfilms dessen Oberflächenspannung die Kugeln wieder zurück in die Kapillaren ziehen würde.

20 Die Fixierung der ausgetretenen und aufgesetzten Kugeln kann auf verschiedene Weise erfolgen. Beispielsweise ist die Verwendung von Kugeln mit magnetischem Kern und das Anlegen eines Magnetfelds sowie die Verwendung einer elektrostatischen Ladung möglich. Vorteilhaft ist es, sofort eine dauerhafte Fixierung herzustellen. Das erfolgt erfindungsgemäß so, daß der Träger vor der Positionierung der Kugeln mit einer geeigneten Substanz beschichtet wird oder der Träger unmittelbar aus dieser Substanz besteht,

5 die eine chemische Bindung mit den Kugeln, ihrer
Beschichtung oder Teilen davon eingeht. Beispiels-
weise kann als Beschichtung ein photopolymerisier-
bares Vorpolymer oder ein Crosslinker verwendet
10 werden, die die Fixierung der Formkörper unter dem
Einfluß von UV-Licht ermöglicht.

15 Die ausgetretene Flüssigkeit kann nach verschiedenen
an sich bekannten Verfahren, wie Verdunsten, über
Drainageelemente im Träger oder auch durch Verwendung
zusätzlicher Hilfskapillaren zum Absaugen der
Flüssigkeit, entfernt werden. Ein Teil der
Flüssigkeit tritt wegen der Oberflächenspannung beim
Entfernen des Positionierkopfs spontan in die
Kapillare zurück. Diesen Effekt kann man dadurch
20 verstärken, indem man die Materialpaarung Puffer-
flüssigkeit - Trägerbeschichtung so wählt, daß im
wesentlichen keine Benetzung erfolgt.

25 Nach der Fixierung werden Positionierkopf und Träger
über geeignete Stellantriebe voneinander entfernt.
Danach kann der nächste Positionierungsvorgang erfolgen.

30 Bei der Bewegung der Kugeln in den Kapillaren kann es
vorkommen, daß diese sich aufgrund von Koagulations-
und/oder Adhäsionserscheinungen zu Clustern formieren
(agglutinieren), was den Positionierungsvorgang unmöglich
machen würde.

35 Erfundungsgemäß wird dieses Problem gelöst, indem die
Kugeln gleichsinnig elektrostatisch aufgeladen werden
- entweder durch Anlegen eines äußeren elektrischen
Feldes oder vorzugsweise durch Modifizierung der
Beschichtung mit polaren Gruppen gleicher Polarität.
In diesem Falle kann der Prozeß des "Herausdrückens"
der Kugel aus der Austrittsöffnung sehr effektiv

5 dadurch unterstützt werden, daß auf den Träger zeitweilig eine Ladung entgegengesetzter Polarität aufgebracht wird.

10 Nach Abschluß des Positionier- und Fixierungsvorgangs werden die Kugeln mit einem geeigneten Gel bedeckt, um ein völliges Austrocknen zu vermeiden, was zu einer biochemischen Degradation der Analysesubstanzen führen würde. Anschließend erfolgt ein Abdecken mit einer mechanischen Schutzschicht, z.B. einer Folie.
15 Damit ist die Herstellung des Analysechips abgeschlossen.

Die Erfahrung wird beispielhaft an Hand von Zeichnungen näher erläutert.

20 Es zeigen

Fig.1 eine schematische stufenförmige Darstellung eines Positionier- und Fixierungsvorganges,

25 Fig.2 eine Draufsicht der Austrittsebene,

Fig.3 ein Blockschatzbild der Vorrichtung

30 und

Fig.4 eine Ansicht der beladenen Trägerebene.

35 In Fig.1 ist in vier Stufen das erfindungsgemäße Verfahren schematisch dargestellt.

Hier werden Formkörper 2 in Form von Polystyrolkugeln von 10 Mikrometern Durchmesser und Kapillarrohre 4 aus Glas mit einem Innendurchmesser einer Aus-

5 trittsöffnung 7 von 16 Mikrometern eingesetzt. Nach oben erweitern sich die Kapillarrohre 4 auf einen Durchmesser einer Einfüllöffnung 8 von 5 mm.

10 Jeweils 19 Kapillarrohre 4 sind hexagonal mittels eines Bindemittels 20 zu einer Positionierzelle 3 zusammengefaßt. Die Kaskadierung mehrerer Positionierzellen 3, wiederum in hexagonaler Anordnung, ergibt einen Positionierkopf 5.

15 In einer Austrittsebene 9 befinden sich Abstandshalter 6 mit einer Länge von 12 Mikrometern, jeweils zwischen den Kapillarrohren 4 angeordnet, zur Abstandshaltung zwischen der Austrittsebene 9 des Positionierkopfes 5 und einer Trägerebene 11 eines Trägers 1. Der Positionierkopf 5 ist über einen Stellantrieb 15 in senkrechter Richtung bewegbar. Stellantriebe 16 und 17 dienen der Bewegung des Positionierkopfes 5 in x- bzw. y-Richtung (Fig.3). Der Positionierkopf 5 ist in den drei Achsen 20 elastisch aufgehängt (in Richtung der z-Achse sowie drehbar um die x- und y-Achse). Durch die Elastizität in z-Richtung kann der Positionierkopf 5 zerstörungsfrei direkt auf den Träger 1 aufgesetzt werden, wobei die Abstandshalter 6 den gewünschten Abstand zwischen Trägerebene 11 und Austrittsebene 9 garantieren. Die elastische Lagerung um die x- und y-Achse führt zum automatischen Ausgleich von Winkelfehlern zwischen Austritts- und Trägerebene 9 und 11.

25 30 35 Als Träger 1 wird ein Plättchen von ca. 1 cm² aus glasklarem Polystyrol verwendet, das auf der Trägerebene 11 mit einer wenige Nanometer dicken Fotopolymerschicht 12 versehen ist. In Fig.1 ist der Träger 1 ohne Vertiefungen dargestellt. Damit entfällt die Notwendigkeit einer Positionierung in x-

5 und y-Richtung im Mikrometerbereich. Einige 10...100 Mikrometer Positioniergenauigkeit sind ausreichend.

10 Nach Positionierung des Trägers 1 mittels zusätzlicher Stellantriebe 18 und 19 unter dem Positionierkopf 5 erfolgt dessen Abwärtsbewegung bis zum Aufsetzen der Abstandshalter 6 auf den Träger 1. Auf die zuvor mit der flüssigen Phase befüllten Kapillarrohre 4, die zusätzlich mit Ultraschall behandelt werden können, wird nun einfüllseitig ein 15 geringer Überdruck aufgebracht, der zum Austreten und Aufsetzen der hier als Kugeln ausgebildeten Formkörper 2 auf der Trägerebene 11 führt. Die Ultraschallbehandlung dient u.a. der Vereinzelung der Kugeln.

20 Eine auf den Träger 1 gerichtete UV-Lampe 13 (Fig.1) wird nunmehr kurzeitig eingeschaltet. Die durch das UV-Licht induzierte Polymerisation fixiert die Kugeln 2 dauerhaft am Träger 1 (Fig.4). Anschließend wird der Positionierkopf 5 mittels des Stellantriebes 15 wieder angehoben. Als UV-Lampe 13 wird eine Ringleuchte verwendet, die um eine Kamera mit Mikroskopobjektiv angeordnet ist. Koppelt man zusätzlich Weißlicht seitlich in den Träger 1 ein, lassen sich die Aufsetzvorgänge von Abstandshaltern 6 und Kugeln 2 von unten beobachten und mittels bekannter Methoden der industriellen Bildverarbeitung zur Prozeßsteuerung nutzen. Eine Regelungseinrichtung 14 regelt und steuert die Stellantriebe 15, 16, 17, 18 und 19, die für die 25 Bewegung des Positionierkopfes 5 und des Trägers 1 zuständig sind. Die dafür erforderlichen Daten werden durch Sensoren 10 ermittelt und der Regelungseinrichtung 14 zugeführt.

30

35

Bezugszeichenliste

10	1	Träger	40	16	Stellantrieb
	2	Formkörper, Kugel		17	Stellantrieb
15	3	Positionierzelle	45	18	Verstellantrieb
	4	Kapillarrohr		19	Verstellantrieb
	5	Positionierkopf		20	Bindemittel
20	6	Abstandshalter	50		
	7	Austrittsöffnung			
	8	Einfüllöffnung			
25	9	Austrittsebene	55		
	10	Sensoren			
30	11	Trägerebene	60		
	12	Photopolymerschicht			
	13	UV-Lampe			
35	14	Regelungseinrichtung	65		
	15	Stellantrieb			

Patentansprüche

- 5 1. Verfahren zur Fixierung von Mikro- und/oder Nanoobjekten, die in einer flüssigen Phase enthalten sind, auf einem Träger, dadurch gekennzeichnet, daß mehrere Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) enthaltende flüssige Phasen in je eine weite Einfüllöffnung (8) sich konusartig verengende Rohre (4) eingefüllt und in Richtung je einer engen Austrittsöffnung (7) der Rohre (4) befördert werden, wobei die engen Austrittsöffnungen (7) durch ihre Form und Größe eine Durchlässigkeit von mehr als einem Objekt (2) verhindert, daß die engen Austrittsöffnungen (7) der Rohre (4) vor dem Austreten der Objekte (2) relativ zu einer Trägerebene (11) dreidimensional (in x-, y- und z-Richtung) positioniert werden und daß die Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) nach dem Austreten aus der Austrittsöffnung (7) in der vorgegebenen Position physikalisch und/oder chemisch und/oder mechanisch auf den Träger (1) fixiert werden.
- 25 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Beförderung der flüssigen Phase einschließlich der festen Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) durch die Rohre (4) mittels einer angelegten Druckdifferenz zwischen der weiten Einfüllöffnung (8) und der engen Austrittsöffnung (7) erfolgt.

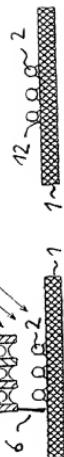
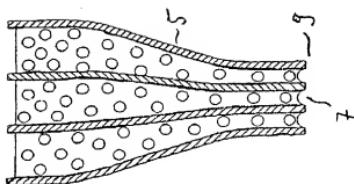
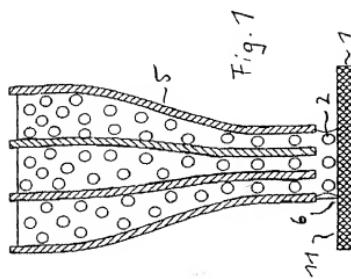
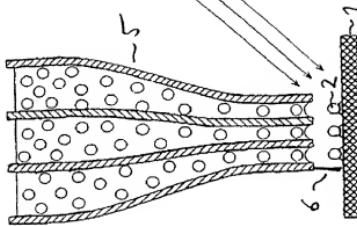
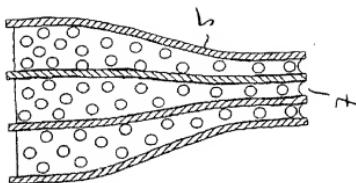
3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet, daß
sowohl Austritt als auch Positionierung und
Befestigung der Mikro- und/oder Nanoobjekte im
wesentlichen gleichzeitig erfolgt.
5
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet, daß
eine vorhergehende reaktive Beschichtung der
Trägerebene (11) erfolgt.
10
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Fixierung der Mikro- und/oder Nanoobjekte (2)
elektrostatisch und/oder photochemisch erfolgt.
15
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Fixierung der Mikro- und/oder Nanoobjekte mit
mechanischen Mitteln erfolgt.
20
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Fixierung der Mikro- und/oder Nanoobjekte nach
deren vorhergehender Magnetisierung durch magne-
tische Kräfte erfolgt.
25
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7,
dadurch gekennzeichnet, daß
nach erfolgter Fixierung der Mikro- und/oder
Nanoobjekte (2) auf die Träger (1) eine Be-
schichtung mit einem Gel erfolgt.
30

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8,
dadurch gekennzeichnet, daß
zur Verhinderung einer Koagulation der Mikro-
und/oder Nanoobjekte (2) in der flüssigen Phase
die Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) gleichsinnig
elektrostatisch und die Trägerebene (11)
gegensinnig elektrostatisch aufgeladen werden.
10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9,
dadurch gekennzeichnet, daß
die in einem Rohr (4) befindlichen Mikro- und/oder
Nanoobjekte (2) mit biologisch-chemisch aktiven
Substanzen einer Art in unterschiedlichen Rohren
(4) die Mikro- und/oder Nanoobjekte (2) mit min-
destens teilweise unterschiedlichen Substanzen
beschichtet sind.
11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10,
dadurch gekennzeichnet, daß
die gleichzeitige Anordnung verschiedener bio-
logisch-chemischer Substanzen zur Detektion von
Nukleotidsequenzen genutzt wird.
12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11,
dadurch gekennzeichnet, daß
zur Detektion von Nukleotidsequenzen eine
Probenflüssigkeit auf den mit den Mikro- und/oder
Nanoobjekten (2) versehenen Träger (1) gebracht
und über bekannte chemische Reaktionen eine
makroskopische oder mikroskopisch beobachtbare
Veränderung der Eigenschaften der Objektober-
flächen insbesondere farbliche Veränderungen oder
Veränderungen der Fluoreszenzeigenschaften nachge-
wiesen werden.

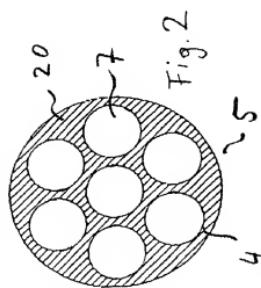
13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12,
dadurch gekennzeichnet, daß
zur Verhinderung von Koagulation und Adhäsion der
Mikro- und/oder Nanoobjekte in der flüssigen Phase
Stabilisierungsmittel, wie Tenside, eingesetzt
werden.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13,
dadurch gekennzeichnet, daß
als Rohre (4) Kapillaren eingesetzt werden.
15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 14,
dadurch gekennzeichnet, daß
als Mikro- und/oder Nanoobjekte Formkörper und/
oder Makromoleküle eingesetzt werden.
16. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens gemäß
der Ansprüche 1 bis 15
bestehend aus einem dreidimensional verschiebbaren
Positionierkopf (5), der eine bündelartige Anord-
nung von konusartig sich verengenden Rohren (4)
aufweist, die je eine weite Einfüllöffnung (8) und
eine enge Austrittsöffnung (7) besitzen,
aus einem Träger (1) mit einer Trägerebene (11),
die parallel zu einer Austrittsebene (9) der Rohre
(4) angeordnet ist und
Stellantrieben (15, 16, 17) zur Positionierung der
Austrittsöffnungen (7) oberhalb der Trägerebene
(11) und Stellantrieben (18, 19) zur Positionierung
des Trägers (1).
17. Vorrichtung nach Anspruch 16,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Positionierkopf (5) aus mehreren Positio-
nierzellen (3) besteht.

18. Vorrichtung nach Anspruch 16 oder 17,
dadurch gekennzeichnet, daß
an der Austrittsebene (9) Abstandshalter (6) ange-
ordnet sind.
- 5
19. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 16 bis 18,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Rohre (4) Kapillaren sind.

1/4



2/4



3/4

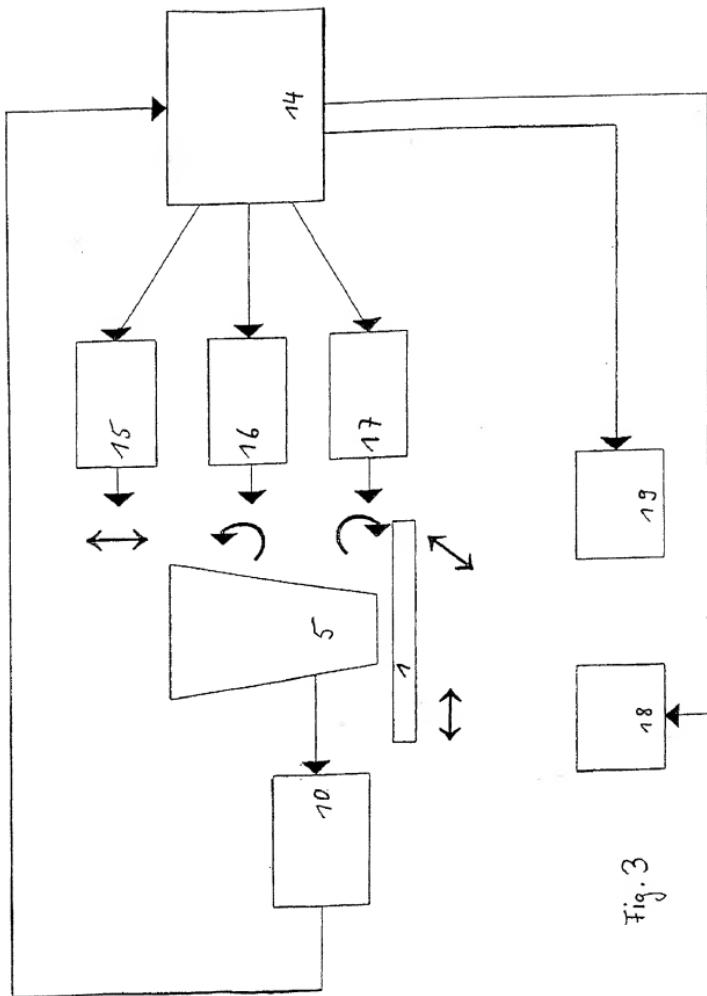


Fig. 3

4/4

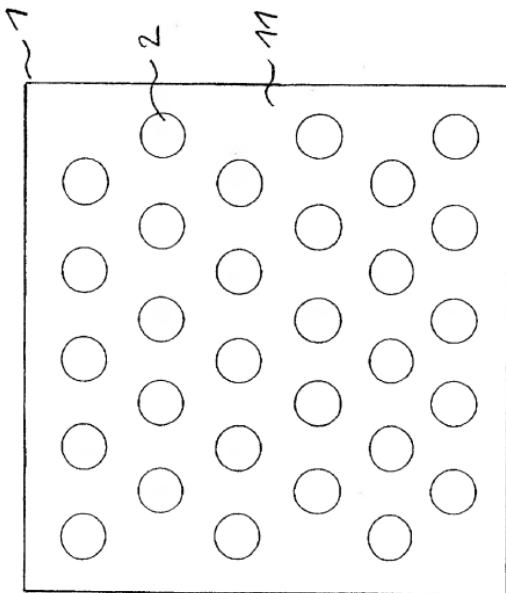


Fig.4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 99/03476A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 GO1N1/31 7/801J19/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 GO1N B01J B01L

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	WO 98 29736 A (GENOMETRIX INC) 9 July 1998 (1998-07-09) page 1, line 19 -page 1, line 22 page 7, line 4 -page 7, line 9 page 7, line 20 -page 7, line 23 page 10, line 17 -page 10, line 21 page 11, line 6 -page 11, line 16 page 15, line 5 -page 15, line 14 page 15, line 21 -page 16, line 8 page 17, line 26 -page 18, line 8 page 19, line 18 -page 19, line 26 page 21, line 6 -page 21, line 27 page 22, line 12 -page 23, line 18 page 25, line 24 -page 26, line 12 page 28, line 12 -page 29, line 23 page 31, line 4 -page 31, line 6 page 45, line 9 -page 46, line 17 page 54, line 7 -page 54, line 24 page 65, line 4 -page 65, line 25 -/-/	16, 17, 19

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

20 September 1999

27/09/1999

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-3020, Tx. 31 651 epo nl
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Koch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 99/03476

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	page 66, line 23 -page 67, line 6 figures 3,4,17	
X	US 4 791 069 A (HOVORKA GEORGE ET AL) 13 December 1988 (1988-12-13) column 1, line 9 -column 1, line 14 column 1, line 63 -column 2, line 23 column 2, line 64 -column 4, line 35 column 4, line 45 -column 5, line 53	1-5,8,15
X	WO 95 35505 A (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR) 28 December 1995 (1995-12-28) page 5, line 26 -page 6, line 10 page 6, line 21 -page 7, line 17 page 7, line 22 -page 9, line 14 page 13, line 9 -page 14, line 10 page 15, line 8 -page 15, line 34 page 20, line 3 -page 22, line 11 page 30, line 15 -page 30, line 29 figures 1-6	16,19
A	WO 97 40383 A (GLAXO GROUP LTD ;CHAN SAM (US); GAVIN ROBERT M (US); KEDAR HAIM (U) 30 October 1997 (1997-10-30) page 1, line 21 -page 3, line 9 page 3, line 23 -page 4, line 16 page 4, line 23 -page 5, line 10 page 5, line 22 -page 5, line 25 page 6, line 1 -page 6, line 8 page 9, line 1 -page 9, line 7 page 9, line 27 -page 10, line 4 page 10, line 19 -page 11, line 13 page 11, line 20 -page 12, line 10 page 12, line 15 -page 14, line 9 page 16, line 15 -page 16, line 26 page 19, line 1 -page 19, line 5 page 21, line 3 -page 21, line 30 page 23, line 6 -page 23, line 12 page 24, line 10 -page 24, line 14 figures 1-12	1-8,14, 16,18,19
A	WO 97 15394 A (BAINS WILLIAM ARTHUR ;HOUZEGO PETER JOHN (GB); SMITHKLINE BEECHAM) 1 May 1997 (1997-05-01) page 1, line 9 -page 2, paragraph 5 page 4, paragraph 6 page 5, paragraph 4 page 7, line 1 -page 8, line 5 figures 1-3	1,2,7,9, 12,16,18
		-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 99/03476

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation or document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	GB 1 503 828 A (UNIV STRATHCLYDE) 15 March 1978 (1978-03-15) page 1, line 10 -page 1, line 30 page 1, line 74 -page 2, line 49 page 2, line 83 -page 2, line 121 page 3, line 7 -page 3, line 27 -----	1,4,5,12
A	DE 44 10 633 C (BIOTEST AG) 20 July 1995 (1995-07-20) page 2, line 34 -page 3, line 36 page 3, line 47 -page 4, line 23 page 5, line 19 -page 5, line 25 figure 4 -----	16,19
A	WO 97 49653 A (IRORI ;NOVA MICHAEL P (US); SHI SHUHAO (US); XIAO XIAO YI (US); PA) 31 December 1997 (1997-12-31) abstract; figure 7 -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internal Application No

PCT/EP 99/03476

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 9829736	A	09-07-1998	AU	6646398 A	31-07-1998
US 4791069	A	13-12-1988	US	4689310 A	25-08-1987
WO 9535505	A	28-12-1995	US	5807522 A	15-09-1998
			AT	180570 T	15-06-1999
			AU	2862995 A	15-01-1996
			CA	2192095 A	28-12-1995
			DE	69509925 D	01-07-1999
			EP	0804731 A	05-11-1997
			EP	0913485 A	06-05-1999
			JP	10503841 T	07-04-1998
WO 9740383	A	30-10-1997	AU	2767797 A	12-11-1997
			EP	0900378 A	10-03-1999
WO 9715394	A	01-05-1997	EP	0862497 A	09-09-1998
GB 1503828	A	15-03-1978	CA	1089339 A	11-11-1980
			DE	2728077 A	05-01-1978
			DK	276677 A	23-12-1977
			FR	2355912 A	20-01-1978
			JP	53020479 A	24-02-1978
DE 4410633	C	20-07-1995		NONE	
WO 9749653	A	31-12-1997	AU	3577997 A	14-01-1998
			AU	7257396 A	28-04-1997
			EP	0853497 A	22-07-1998
			WO	9712680 A	10-04-1997

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PC1/EP 99/03476A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 GO1N1/31 //B01J19/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 6 GO1N B01J B01L

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	WO 98 29736 A (GENOMETRIX INC) 9. Juli 1998 (1998-07-09) Seite 1, Zeile 19 -Seite 1, Zeile 22 Seite 7, Zeile 4 -Seite 7, Zeile 9 Seite 7, Zeile 20 -Seite 7, Zeile 23 Seite 10, Zeile 17 -Seite 10, Zeile 21 Seite 11, Zeile 6 -Seite 11, Zeile 16 Seite 15, Zeile 5 -Seite 15, Zeile 14 Seite 15, Zeile 21 -Seite 16, Zeile 8 Seite 17, Zeile 26 -Seite 18, Zeile 8 Seite 19, Zeile 18 -Seite 19, Zeile 26 Seite 21, Zeile 6 -Seite 21, Zeile 27 Seite 22, Zeile 12 -Seite 23, Zeile 18 Seite 25, Zeile 24 -Seite 26, Zeile 12 Seite 28, Zeile 12 -Seite 29, Zeile 23 Seite 31, Zeile 4 -Seite 31, Zeile 6 Seite 45, Zeile 9 -Seite 46, Zeile 17 Seite 54, Zeile 7 -Seite 54, Zeile 24 Seite 65, Zeile 4 -Seite 65, Zeile 25 -/-	16, 17, 19

 Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam angesehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldeatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen Recherchebericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll, die aus einem anderen besonderen Grund entgegen ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benützung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldeatum veröffentlicht, aber nach dem ausgeschriebenen Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldeatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie beigetragen ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht aufgrund der anderen Veröffentlichungen, die in dem betreffenden Bericht verzeichnet sind, als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"3" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Abgabedatum des Internationalen Rechercheberichts

20. September 1999

27/09/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchebehörde

Bevollmächtigter Bediensteter

Europäisches Patentamt, P.B. 5816 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-2016

Koch, A

INTERNATIONALER FORSCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 99/03476

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
	Seite 66, Zeile 23 -Seite 67, Zeile 6 Abbildungen 3,4,17 ---	
X	US 4 791 069 A (HOVORKA GEORGE ET AL) 13. Dezember 1988 (1988-12-13) Spalte 1, Zeile 9 -Spalte 1, Zeile 14 Spalte 1, Zeile 63 -Spalte 2, Zeile 23 Spalte 2, Zeile 64 -Spalte 4, Zeile 35 Spalte 4, Zeile 45 -Spalte 5, Zeile 53 ---	1-5,8,15
X	WO 95 35505 A (UNIV LELAND STANFORD JUNIOR) 28. Dezember 1995 (1995-12-28) Seite 5, Zeile 26 -Seite 6, Zeile 10 Seite 6, Zeile 21 -Seite 7, Zeile 17 Seite 7, Zeile 22 -Seite 9, Zeile 14 Seite 13, Zeile 9 -Seite 14, Zeile 10 Seite 15, Zeile 8 -Seite 15, Zeile 34 Seite 20, Zeile 3 -Seite 22, Zeile 11 Seite 30, Zeile 15 -Seite 30, Zeile 29 Abbildungen 1-6 ---	16,19
A	WO 97 40383 A (GLAXO GROUP LTD :CHAN SAM (US); GAVIN ROBERT M (US); KEDAR HAIM (U) 30. Oktober 1997 (1997-10-30) Seite 1, Zeile 21 -Seite 3, Zeile 9 Seite 3, Zeile 23 -Seite 4, Zeile 16 Seite 4, Zeile 23 -Seite 5, Zeile 10 Seite 5, Zeile 22 -Seite 5, Zeile 25 Seite 6, Zeile 1 -Seite 6, Zeile 8 Seite 9, Zeile 1 -Seite 9, Zeile 7 Seite 9, Zeile 27 -Seite 10, Zeile 4 Seite 10, Zeile 19 -Seite 11, Zeile 13 Seite 11, Zeile 20 -Seite 12, Zeile 10 Seite 12, Zeile 15 -Seite 14, Zeile 9 Seite 16, Zeile 15 -Seite 16, Zeile 26 Seite 19, Zeile 1 -Seite 19, Zeile 5 Seite 21, Zeile 3 -Seite 21, Zeile 30 Seite 23, Zeile 6 -Seite 23, Zeile 12 Seite 24, Zeile 10 -Seite 24, Zeile 14 Abbildungen 1-12 ---	1-8,14, 16,18,19
A	WO 97 15394 A (BAINS WILLIAM ARTHUR ;HOUZEGO PETER JOHN (GB); SMITHKLINE BEECHAM) 1. Mai 1997 (1997-05-01) Seite 1, Zeile 9 -Seite 2, Absatz 5 Seite 4, Absatz 6 Seite 5, Absatz 4 Seite 7, Zeile 1 -Seite 8, Zeile 5 Abbildungen 1-3 ---	1,2,7,9, 12,16,18
		-/-

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Off. nationales Aktenzeichen

PC1/EP 99/03476

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	GB 1 503 828 A (UNIV STRATHCLYDE) 15. März 1978 (1978-03-15) Seite 1, Zeile 10 -Seite 1, Zeile 30 Seite 1, Zeile 74 -Seite 2, Zeile 49 Seite 2, Zeile 83 -Seite 2, Zeile 121 Seite 3, Zeile 7 -Seite 3, Zeile 27 ----	1,4,5,12
A	DE 44 10 633 C (BIOTEST AG) 20. Juli 1995 (1995-07-20) Seite 2, Zeile 34 -Seite 3, Zeile 36 Seite 3, Zeile 47 -Seite 4, Zeile 23 Seite 5, Zeile 19 -Seite 5, Zeile 25 Abbildung 4 ----	16,19
A	WO 97 49653 A (IRORI ;NOVA MICHAEL P (US); SHI SHUHAO (US); XIAO XIAO YI (US); PA) 31. Dezember 1997 (1997-12-31) Zusammenfassung; Abbildung 7 -----	1

INTERNATIONALER RECHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PC / EP 99/03476

im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9829736	A	09-07-1998	AU	6646398 A		31-07-1998
US 4791069	A	13-12-1988	US	4689310 A		25-08-1987
WO 9535505	A	28-12-1995	US	5807522 A		15-09-1998
			AT	180570 T		15-06-1999
			AU	2862995 A		15-01-1996
			CA	2192095 A		28-12-1995
			DE	69509925 D		01-07-1999
			EP	0804731 A		05-11-1997
			EP	0913485 A		06-05-1999
			JP	10503841 T		07-04-1998
WO 9740383	A	30-10-1997	AU	2767797 A		12-11-1997
			EP	0900378 A		10-03-1999
WO 9715394	A	01-05-1997	EP	0862497 A		09-09-1998
GB 1503828	A	15-03-1978	CA	1089339 A		11-11-1980
			DE	2728077 A		05-01-1978
			DK	276677 A		23-12-1977
			FR	2355912 A		20-01-1978
			JP	53020479 A		24-02-1978
DE 4410633	C	20-07-1995		KEINE		
WO 9749653	A	31-12-1997	AU	3577997 A		14-01-1998
			AU	7257396 A		28-04-1997
			EP	0853497 A		22-07-1998
			WO	9712680 A		10-04-1997